

Deneysel Araştırma

Dokсорubisin Uygulanmasının Sıçan Böbrek Dokusunda Meydana Getirdiği Değişiklikler Üzerine Benfotiamin'in Koruyucu Etkileri

Feride ÇETİN¹, Nevzat GÖZEL¹, Nalan KAYA², Ebru ÖNALAN³, Ali GÜREL¹, Ramazan ULU¹, Tuncay KULOĞLU^{a2}, Emir DÖNDER¹

¹Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıklar Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

³Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

ÖZET

Amaç: Dokсорubisin bir antrasiklindir ve çeşitli hayvan modeli ve insan çalışmalarında benzer nefrotoksik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, dokсорubisin uygulanan sıçanların böbrek dokularında meydana gelen değişiklikler üzerine benfotiaminin etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, 24 adet Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları 4 eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubuna deney süresi olan 14 gün boyunca hiçbir uygulama yapılmadı. Dokсорubisin grubuna dokсорubisin 10 mg/kg intraperitoneal (i.p) tek doz uygulandı. Dokсорubisin + Benfotiamin grubuna 10 mg/kg i.p tek doz dokсорubisin verilmesinden sonra 70 mg/kg/gün dozunda benfotiamin oral olarak verildi. Benfotiamin grubuna ise 70 mg/kg/gün dozunda benfotiamin oral olarak uygulandı. Deney sonunda sıçanlar dekapite edildi ve böbrek dokuları çıkartıldı. Rutin takip işlemi ile dokular parafin bloklara gömüldü. Bloklardan alınan kesitlere Bax ve kaspaz-3 immünreaktivitesi için avidin-biotin-peroksidaz yöntemi uygulandı. Malondialdehit (MDA) seviyesi ise spektrofotometrik olarak belirlendi.

Bulgular: Bax ve kaspaz-3 immünreaktivitesi kontrol ve benfotiamin gruplarında +1 yaygınlığında gözlemlendi. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında Dokсорubisin grubunda Bax ve kaspaz-3 immünreaktivitesinde artış izlendi ve +3 yaygınlığında değerlendirildi. Dokсорubisin grubu ile karşılaştırıldığında Dokсорubisin + Benfotiamin grubunda Bax ve kaspaz-3 immünreaktivitesinde azalma gözlemlendi ve +2 yaygınlığında değerlendirildi. MDA düzeyi Dokсорubisin verilen grupta, kontrol grubu ve benfotiamin verilen grupta kıyaslandığında böbrek dokularında anlamlı olarak artmış bulundu. Dokсорubisin grubu ile karşılaştırıldığında Dokсорubisin + benfotiamin verilen grupta MDA düzeyi anlamlı olarak azalmış bulundu.

Sonuç: Bu çalışma dokсорubisinin böbrek dokularında apoptozisi indüklediğini ve benfotiaminin dokсорubisinin etkilerine karşı anti-apoptotik ve antioksidan etkileri olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Dokсорubisin, Böbrek, Apoptozis, Benfotiamin.

ABSTRACT

Protective Effects of Benfotiamin on The Alterations Revealed After Doxorubicin Administration in The Rat Kidney Tissues

Objective: Doxorubicin is an antiracycline that have similar nephrotoxic effects in both animal and human studies. In this study, we aimed to investigate the effects of benfotiamine on kidney tissues of the rats treated with doxorubicin.

Material and Method: 24 wistar albino male rats were used in this study. Animals were divided to 4 equal groups. During the 14 day experiment period, control group did not receive any medication. 10 mg/kg intraperitoneal (i.p) doxorubicin was administered to Doxorubicin group. In Doxorubicin+benfotiamine group; in addition to 10 mg/kg i.p single dose doxorubicin, 70 mg/kg benfotiamine was administered. Benfotiamine group received 70 mg/kg benfotiamine. At the end of the experiment, rats were decapitated and kidney tissues were removed. Tissues were embedded into paraffine blocks with routine follow-up. Avidin-biotin-peroxidase method was applied to the sections obtained from blocks for Bax and caspase-3 immunoreactivity. Malondialdehyde (MDA) levels were measured by spectrophotometer.

Results: Bax and caspase-3 immunoreactivities were in +1 prevalence in control and benfotiamine groups. In doxorubicin group, bax and caspase-3 immunoreactivity was increased in +3 prevalence in comparison with control group. In doxorubicin + benfotiamine group,-- bax and caspase-3 immunoreactivity was decreased to +2 prevalence in comparison with Doxorubicin group.-- In doxorubicin group,kidney tissue MDA levels were increased significantly in comparison with control and benfotiamine groups. MDA levels of Doxorubicin+benfotiamine group decreased significantly in comparison with Doxorubicin group.

Conclusion: In this study we observed that doxorubicin induces apoptosis in kidney tissues and benfotiamine have anti-apoptotic and antioxidant effects against Doxorubicin effects.

Key Words: Doxorubicin, Kidney, Apoptosis, Benfotiamine.

^a Yazışma Adresi: Dr. Tuncay KULOĞLU, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

Tel: 0 424 2370000/4645

Geliş Tarihi/Received: 09.06.2014

e-mail: tkuloglu@firat.edu.tr

Kabul Tarihi/Accepted: 23.07.2014

Böbrekler glomerüler filtrasyon sonucu meydana getirdikleri idrar ile kandan toksik metabolizma ürünlerini uzaklaştırır, idrarın yoğunluk ve yapısını değiştirmek sureti ile de organizmanın su-elektrolit ve asit-alkali dengesini ayarlarlar (1). Doksorubisin, antrasiklin yapısında geniş spektrumlu ve güçlü bir antineoplastik ajandır (2). Çalışmalarda ortaya çıkan bulgular, doksorubisine bağlı toksisitenin patogenezinde; antioksidan enzimlerde azalmanın, serbest radikal oluşumunda ve lipid peroksidasyonunda artmanın rol oynuyor olabileceğini desteklemektedir. Doksurubisin böbrekte oksidan hasara ek olarak tübüler atrofi ve glomerüler kapiller permeabilitede artışa da meydana getirmektedir (3).

Benfotiamin, B1 vitamininin yağda eriyen türüdür. Çalışmalar benfotiaminin reaktif oksijen türleri (ROS) üzerinde baskılayıcı özellikte olduğunu göstermiştir (4, 5). Benfotiaminin insan endotel hücrelerinde ilerlemiş glikasyon son ürünlerinin (Advanced Glycation Endproduct, AGE) artışını engellediği görülmüştür (6). Benfotiaminin özellikle diyabet ve komplikasyonları üzerindeki olumlu etkileri gösterilmiş olsa da, doksorubisin nefropatisinde benfotiamin etkinliği daha önce araştırılmamıştır.

Bu çalışmada Doksorubisin uygulanmasının sıçan böbrek dokusunda meydana getirdiği değişiklikler üzerine benfotiamin'in koruyucu etkilerini incelemeyi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma öncesi gerekli olan etik onay Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan alındı. (Proje no: TF.12.91Onay tarihi: 04.12.2012) Çalışmada Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edilen 8 haftalık, 250 - 350 gram ağırlığında erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar rastgele seçilerek 4 eşit gruba ayrıldı. Çalışmamızda kullanılan sıçanlar 21° C oda ısısında 12 saat ışık altında ve 12 saat karanlıkta tutuldu. Sıçanlar; kontrol, doksorubisin, doksorubisin+benfotiamin ve benfotiamin olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Kontrol grubu (n=6): On dört günlük çalışma süresince herhangi bir işlem yapılmadı.

Doksurubisin grubu (n=6): Deneyin 1. günü doksurubisin hidroklorid 10 mg/kg intraperitoneal (i.p) tek doz uygulandı.

Doksurubisin+Benfotiamin grubu (n=6): Deneyin 1. günü doksurubisin 10 mg/kg (i.p) tek doz uygulandı. Daha sonra on dört gün boyunca günlük 70 mg/kg dozunda benfotiamin orogastrik gavaj yoluyla verildi.

Benfotiamin grubu (n=6): Deney boyunca 70 mg/kg dozunda benfotiamin orogastrik gavajla verildi.

Tüm gruplardaki sıçanlar 14 günlük deney sonunda ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edilerek, böbrek dokuları hızla çıkarıldı. Çıkarılan böbrek dokuları histolojik çalışma için % 10'luk formol solüsyonunda tespit edildi. Malondialdehit (MDA) için alınan dokular ise çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı.

Böbrek dokusunda bax ve kaspaz-3 immünreaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleksi yöntemi uygulandı. Parafin bloklardan 5-6 mm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildikten sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için H₂O₂ ile muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için Ultra V Block solüsyonu ile muameleden sonra primer antikor (Bax mouse monoclonal Ig G, Santa Cruz Biotechnology, sc-7480, California, USA; caspaz 3 Rabbit polyclonal IgG, Abcam, ab2302, London, UK) ile 60 dakika inkübe edildi. Primer antikor uygulanmasından sonra sekonder antikor (biyotinli anti-mouse / rabbit IgG, Diagnostic BioSystems, KP 50A, Pleasanton, USA), Streptavidin peroksidaz ve AEC kromojeni uygulandıktan sonra Mayer's hematoksilenle zıt boyama yapıldı. Negatif kontrol için hazırlanan dokularda primer antikor yerine phosphate buffered saline (PBS) kullanıldı. PBS ve distile sudan geçirilen dokular uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Novel N 800 M mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. Skala bar: 50 µm.

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın yaygınlığı esas alındı. Sitoplazmik immün boyanmanın yaygınlığı 0'dan +3'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (0; yok, +1; az, +2; orta, +3; şiddetli).

MDA analizi 0.42 gr Tris-base + 1.43 Tris-HCl +3 gr KCl ve 0.5 ml Tween 20, 250 ml distile suda hazırlandı. Hazırlanan bu tampon örneklerin homejenatında kullanıldı. 1 gr doku üzerine 5 ml tampon ilave edildi ve homojenizatör (Ultra-Turax T25, IKA-Laborstechnik) yardımıyla doku tamamen parçalandı. Homejenat 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısmından 1 ml yeni bir tüpe alındı. Alınan 1 ml örnek üzerine 1 ml % 10'lük Tri-kloro asetik asit (TCA), 1 ml % 0,067 2-Thio barbitürik asit (TBA), 1 ml distile su ve 0.5 ml % 4'lük Hidroklorik asit (HCl) ilave edildi. Hazırlanan karışım 90°C de 120 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası tüpler oda sıcaklığında soğutuldu ve üzerine 3 ml bütanol ilave edilip vortekslendi. Tüpler 5 dakika 5000 rpm'de santrifüj edildi ve oluşan süpernatanttaki kırmızı-pembe renk spektro küvetine pipet yardımıyla alındı ve bütanole karşı 532 nm'de okundu.

Elde edilen veriler ortalama±standart hata olarak belirlendi. Elde edilen verilerin istatistiksel anlamlılık

duzeyleri student T “paired” ve one-way ANOVA testi ile belirlendi. $p < 0.05$ deęerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

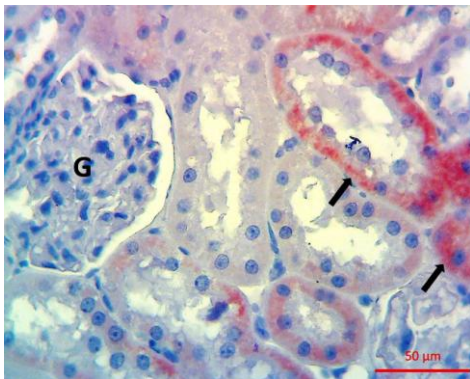
Dokso rubisin verilen grup, kontrol grubu ve benfotiamin verilen grupla kıyaslandığında böbrek dokularında MDA düzeyi anlamlı olarak artmış bulundu ($p < 0.05$). Dokso rubisin + benfotiamin verilen grup dokso rubisin verilen grupla kıyaslandığında böbrek dokularında MDA düzeyi anlamlı olarak azalmış bulundu ($p < 0.05$). Tüm bu parametreler Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. MDA Düzeyleri

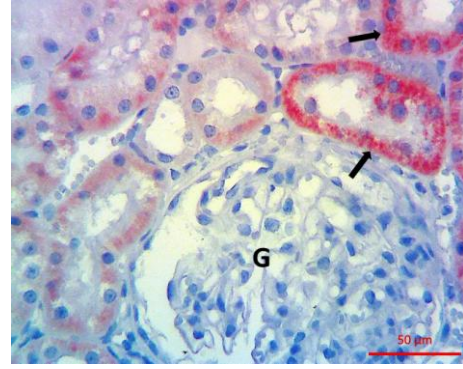
Grup	MDA (nmol/g)
Kontrol	73,10±5,85
Benfotiamin	67,20± 4,12
Dokso rubisin	94,97± 14,40 ^{a,b}
Benfotiamin+dokso rubisin	62,07± 10,54 ^c

^aKontrolle göre ($p < 0,05$), ^bBenfotiamin grubuna göre ($p < 0,05$), ^cDokso rubisin grubuna göre ($p < 0,05$).

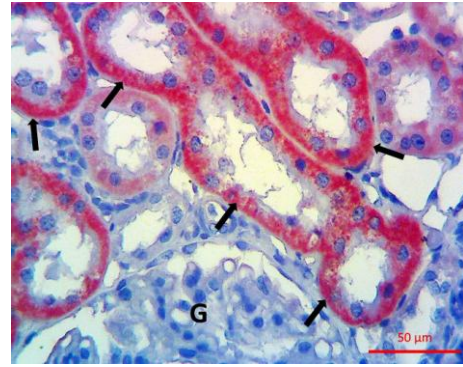
Bax immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; bax immünreaktivitesi kontrol ve benfotiamin gruplarında +1 yaygınlığında gözlemlendi (Şekil 1, 2). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Dokso rubisin grubunda bax immünreaktivitesinde belirgin bir artış vardı ve +3 yaygınlığında olduğu görüldü (Şekil 3). Benfotiamin’in tedavi olarak verildiği dokso rubisin + benfotiamin grubunda ise dokso rubisin grubuna göre bax immünreaktivitesinin belirgin azaldığı, kontrol grubuna yakın olduğu izlendi ve +2 olarak değerlendirildi (Şekil 4). Negatif kontrolde herhangi bir boyanma saptanmadı (Şekil 5).



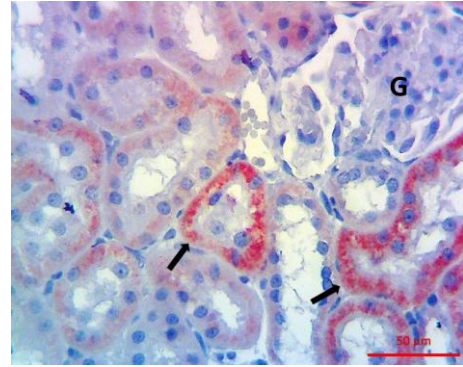
Şekil 1. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında bax immünreaktivitesi (→). Glomerül (G). Skala bar: 50µm.



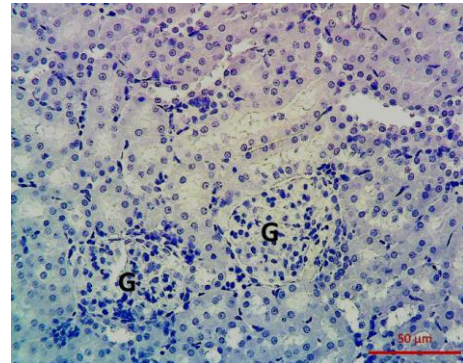
Şekil 2. Benfotiamin verilen gruba ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında bax immünreaktivitesi (→). Glomerül (G). Skala bar: 50µm.



Şekil 3. DX verilen gruba ait böbrek dokusunda +3 yaygınlığında bax immünreaktivitesi (→). Glomerül (G). Skala bar: 50µm.

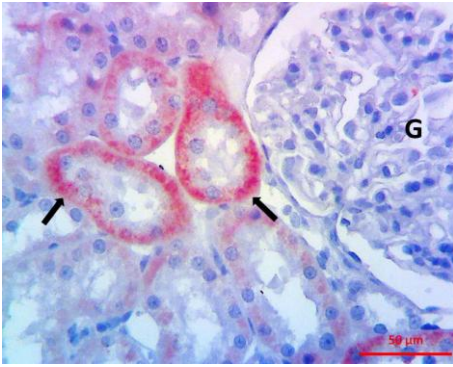


Şekil 4. DX + benfotiamin grubuna ait böbrek dokusunda +2 yaygınlığında bax immünreaktivitesi (→). Glomerül (G). Skala bar: 50µm.

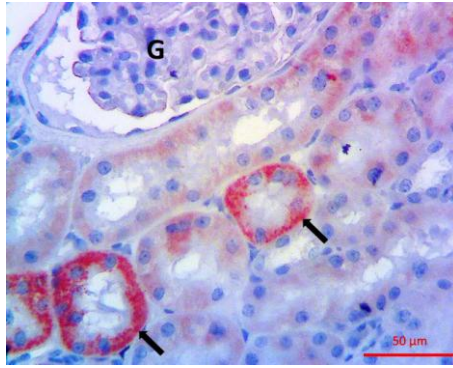


Şekil 5. Bax negatif kontrol. Glomerül (G). Skala bar: 50µm.

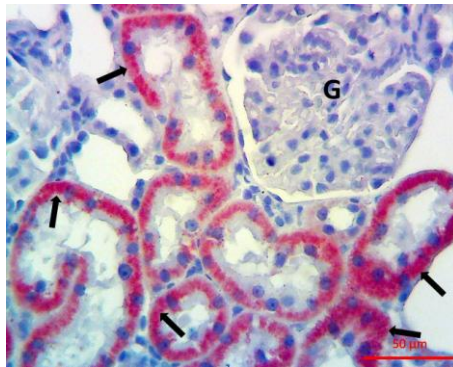
Kaspaz-3 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; Kaspaz-3 immünreaktivitesi kontrol ve benfotiamin gruplarında +1 yaygınlığında gözlemlendi (Şekil 6, 7). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Doksorubisin grubunda Kaspaz-3 immünreaktivitesinde belirgin bir artış vardı ve +3 yaygınlığında olduğu görüldü (Şekil 8). Benfotiamin'in tedavi olarak verildiği Doksorubisin+ benfotiamin grubunda ise Doksorubisin grubuna göre Kaspaz-3 immünreaktivitesinde belirgin azalmanın, kontrol grubuna yakın olduğu izlendi ve +2 olarak değerlendirildi (Şekil 9). Negatif kontrolde herhangi bir boyanma saptanmadı (Şekil 10).



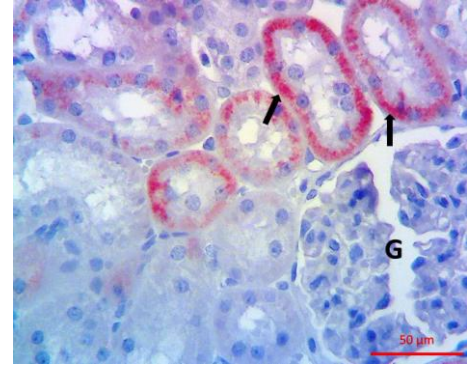
Şekil 6. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında Kaspaz 3 immünreaktivitesi (→). Glomerül (G). Skala bar: 50µm.



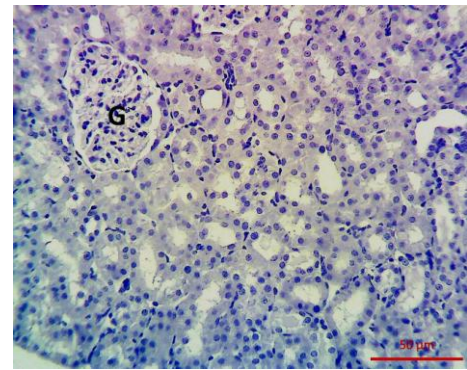
Şekil 7. Benfotiamin verilen gruba ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında Kaspaz 3 immünreaktivitesi (→). Glomerül (G). Skala bar: 50µm.



Şekil 8. DX verilen gruba ait böbrek dokusunda +3 yaygınlığında Kaspaz 3 immünreaktivitesi (→). Glomerül (G). Skala bar: 50µm.



Şekil 9. DX + benfotiamin grubuna ait böbrek dokusunda +2 yaygınlığında Kaspaz 3 immünreaktivitesi (→). Glomerül (G). Skala bar: 50µm.



Şekil 10. Kaspaz 3 negatif kontrol. Glomerül (G). Skala bar: 50µm.

TARTIŞMA

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların çoğu sitotoksik etkileri ile malign hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını önler ve ölmelerine neden olurlar (7). Doksorubisin de kanser tedavisinde kullanılan ve yan etkileri fazla olan antrasiklin grubundan, etkin bir kemoterapotik ajandır (8, 9). En sık hematolojik malignitelerde, sarkom, lenfoma, prostat karsinomu, tiroid, akciğer ve meme karsinomlarında kullanılır (10). Kemoteropötik ilaçların kullanımı sırasında en büyük endişe toksisiteLERİDİR. Antimetabolitler, antrasiklinler ve alkilleyici ilaçlar en sık nefrotoksisiteye neden olan ilaçların başında gelir (11, 12). Bir çok kemoterapi ilacının atıldığı organlar böbreklerdir. İlaçların metabolitleri de böbrekleri duyarlı hale getirebilmektedir. Glomerüllerde, tübüllerde, damarlarda semptomatik olmayan kreatinin yüksekliğinden, diyaliz gerektiren akut böbrek yetmezliğine kadar uzanan düzeyde böbrek fonksiyon bozukluğu oluşturabilirler (13). Doksorubisin proksimal tübül hücrelerinde birikerek akut tübüler nekroza neden olabilmektedir. Ayrıca böbrekte glomerüler kapiller permeabilitede artış ve tübüllerde atrofi oluşturmaktadır (11). Doksorubisin; kalp, böbrek ve karaciğerde anlamlı derecede lipid peroksidasyonuna neden olur ve bunun en önemli göstergelerinden biri MDA seviyelerinin artmış olmasıdır (14).

El Sheikh ve ark. (15) yaptıkları çalışmada tek doz i.p 15 mg/kg doksorubisin uygulamasından 8 gün sonra renal hasar oluştuğunu göstermişlerdir. Lahoti ve ark. (16) ise doksorubisinin i.p 12 mg/ kg verildikten 8 gün sonra serum üre ve kreatinin düzeylerinin arttığını göstermişlerdir. Ayrıca El-Shitany ve ark. (17), 10 mg/kg doksorubisin kullanımından 30 gün sonra renal tübüler hasar geliştiğini saptamışlardır. Biz de yaptığımız çalışmada 10 mg/kg i.p doksorubisin uyguladık ve böbrek dokularında immünhistokimyasal olarak boyanmada pre-apoptotik olarak bax ve kaspaz-3 immünreaktivitesinde ve lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeylerinde belirgin artış saptadık.

Doksorubisinin, direkt olarak ya da oluşturduğu serbest radikaller aracılığı ile indirekt olarak, DNA sarmallarını ve çeşitli enzimlerin transkripsiyonel veya translasyonel aşamalarda gen ekspresyonunu değiştirdiği ve böylece antioksidan enzim aktivitelerinde değişikliklere yol açtığı kabul edilmektedir. Bazı çalışmalarda patogeneze sorumlu tutulan serbest radikaller süperoksit, hidroksil radikalleri ve nitrik oksit (NO)'tir. Serbest radikallerin indüklediği MDA gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin de olaya katkısı olduğu katalaz (CAT), glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimleri azaltarak kardiyotoksisiteye ve nefrotoksisiteye neden olduğu da gösterilmiştir (18, 19). Doksorubisine bağlı toksisitenin patogenezinde serbest radikal ve antioksidan enzimlerin rol aldığına dair bulgular antioksidan tedavi denemelerini gündeme getirmiştir (20).

Tulubas ve ark. (21) yaptıkları çalışmada doksorubisinin böbrek üzerine toksik etkisini ve bu toksik etkiye karşı omega-3 yağ asitlerinin koruyucu etkisini araştırmışlar; Doksorubisini 30 mg/kg tek doz ip vermişler ve kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında sıçanlarda serum, karaciğer ve böbrek dokularında GSH, SOD ve GSH-Px düzeylerinde azalma ve MDA düzeylerinde ise artış tespit etmişlerdir. Doksorubisin ve omega-3 yağ asitleri verilen grup sadece doksorubisin verilen grupla karşılaştırıldığında serum, böbrek ve karaciğer dokularında MDA seviyelerinde anlamlı azalma görülürken, GSH, SOD ve GSH-Px düzeylerinde ise anlamlı bir artış tespit etmişler. Kalaiselvi ve ark. (22) yaptıkları benzer bir çalışmada, 10 mg/kg i.v doksorubisin uygulaması sonrasında enzimatik antioksidan seviyelerinde (SOD, CAT, GSH Px, GSH redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ve GSH-S-transferaz) önemli derecede düşüş ve MDA seviyesinde ise artış saptamışlar. Koul ve ark. (23) yaptıkları çalışmada doksorubisinin indüklediği nefrotoksisiteyi göstermek için böbrek dokularında, GSH, GSH Px, GSH redüktaz ve CAT aktivitelerinde önemli bir azalma olduğunu saptamışlar. Doksorubisin grubuyla kıyaslandığında domatesten üretilen likopen verilen grupta GSH düzeylerinde belirgin artış ve

antioksidan düzeyini yansıtan CAT, GSH-Px ve GSH redüktaz düzeylerinde belirgin artış izlemişlerdir. Sonuç olarak, likopenin doksorubisin kaynaklı nefrotoksisiteyi azaltabileceği görülmüştür.

Suda çözülebilen B1 vitaminine tiamin, yağda çözülebilen B1 vitaminine ise benfotiamin denir (24). Benfotiamin yapısı gereği gerçek tiamine göre çok daha yüksek bir biyoelverişliliğe sahiptir (25, 26). Bazı çalışmalar benfotiaminin ROS üzerinde baskılayıcı özellikte olduğunu göstermiştir (4, 5). Benfotiaminin insan endotel hücrelerinde ilerlemiş glikasyon son ürünleri (AGE)'nin artışı engelleyici görülmüştür (6). Redükte olmuş GSH; hücre içerisinde oksidan ajanların etkisini azaltarak hücrenin etkili proteinlerini oksidasyona karşı korur ve antioksidan özellik gösterir. Bu esnada GSH oksitlenir. Bu GSH'ın görevini yerine getirebilmesi için tekrar redükte olması gerekmektedir. Bu amaçla nikotinamid adenozin dinükleotid fosfat (NADPH)'lar kullanılır. NADPH için pentoz fosfat yolu önemlidir ve tiamin de bu yola etki ettiği için bir antioksidan olarak kabul edilebilir (6, 27). Benfotiamin tarafından endotel hücrelerinde ve perisitlerde yüksek glukoz maruziyetinden dolayı meydana gelen apoptozisin iki göstergesi olan kaspaz-3 aktivitesi ve deoksiribonükleik asit (DNA) fragmentasyonu artışı engellenebilir (28). Yapılan çalışmalarda serbest radikaller ve AGE'nin, protein kinaz-c (PKC)'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Aktive olan PKC'nin, hücre dışı matriks bileşenlerini, vasküler kan akımını, damar permeabilitesini ve hücre büyümesini etkileyerek vasküler komplikasyonların patogenezinde rol aldığı öne sürülmektedir (29, 30). Benfotiamin transketolazı aktive ederek pentoz fosfat yolunu çalıştırır. PKC hareketini azaltır ve ROS üreten NADPH oksidaz enzimini inaktifleştirir ve böylelikle oksidatif stresi azaltarak ve önleyerek antioksidan etki gösterir (31, 32).

Harisa ve ark. (33) yaptıkları çalışmada sisplatinle oluşturulmuş nefrotoksistide benfotiaminin koruyucu etkilerini araştırmışlar ve sisplatin verilen sıçanlarda kontrol grubuna göre renal hasar ve oksidatif stres belirteçlerinden NO, MDA, SOD düzeylerinde artış, GSH düzeylerinde ise azalma saptamışlardır. Sisplatinle eş zamanlı benfotiamin uygulanan sıçanlarda ise kontrol grubuna göre bu değerlerde düzelme saptanmıştır. Bu çalışmada benfotiaminin reaktif oksijen ve azot türlerini inhibe ederek sisplatinin neden olduğu nefrotoksisiteyi önleyebileceği gösterilmiştir.

Karachalias ve ark. (34) yaptıkları çalışmada deneysel mikrovasküler komplikasyon gelişmiş diyabetik sıçanlarda protein hasarı, glikasyon, oksidasyon ve nitrasyon üzerine benfotiamin ve tiaminin etkilerini araştırmışlardır. Diyabet streptozotosin ile oluşturulmuş ve insülin ile yönetilmiştir. Kontrol ve diyabetik gruptaki sıçanlara 24 hafta boyunca dönüşümlü olarak 1 gün 7 mg/kg ve

ertesesi gün ise 70 mg/ kg tiamin veya benfotiamin verilmiştir. Diyabetik sıçanların retina, glomerül, siyatik sinir dokularında ve plazma proteinlerinde AGE ve fruktozil-lizin düzeylerinde 4 kat artış saptanmış. Tiamin ve benfotiamin verilenlerde AGE düzeyindeki artışlarda azalma olmuş, fakat fruktozil-lizinde ise düzelme olmamıştır. Tiamin ve benfotiamin tedavisiyle glikasyon, oksidasyon ve nitrasyondaki artışlar düzelmiştir.

Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Doksorubisin verilen grupta sıçan böbrek dokusunda MDA seviyesi ile bax ve kaspaz-3 immünreaktivitesinde belirgin olarak artış gözlemlendi.

KAYNAKLAR

1. Çavuşoğlu H (Ed), Çağlayan Yeğen B (Ed). Tıbbi Fizyoloji 11. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, 2007; 307-26.
2. Türker A, Kayaalp O. Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik ilaçlar içinde: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Kayaalp O (Ed), 10. Baskı, Ankara: Hacettepe-Taş, 2002; 380-415.
3. Injac R, Boskovic M, Perse M. Acute doxorubicin nephrotoxicity in rats with malignant neoplasm can be successfully treated with fullereneol C60(OH)24 via suppression of oxidative stress. Pharmacological Reports 2008; 60: 742-9.
4. Gadau S, Emanueli C, Van Linthout S, et al. Benfotiamine accelerates the healing of ischaemic diabetic limbs in mice through protein kinase B/Akt-mediated potentiation of angiogenesis and inhibition of apoptosis. Diabetologia 2006; 49: 405-20.
5. Marchetti V, Menghini R, Rizza S, et al. Benfotiamine counteracts glucose toxicity effects on endothelial progenitor cell differentiation via Akt/FOXO signaling. Diabetologia 2006; 55: 2231-7.
6. Pomero F1, Molinar Min A, La Selva M, et al. Benfotiamine is similar to thiamine in correcting endothelial cell defects induced by high glucose. Acta Diabetologica 2001; 38: 135-8.
7. Tozkoparan B, Aytac PS. Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak GSH S-transferazlar. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 2007; 27: 139-64.
8. Demir F, Narin F, Akgün H. Doksorubisin ile oluşturulmuş deneysel kardiyotoksosite üzerine melatoninin etkisi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2004; 47: 260-8.
9. Malarkodi KP, Balachandrar AV, Varalakshmi P. Protective effect of lipoic acid on adriamycin induced lipid peroxidation in rat kidney. Mol Cell Biochem 2003; 247: 9-13.
10. Dökmeci İ (Ed). Farmakoloji İlaç Uygulamaları. 4th ed. İstanbul: Nobel Kitap Evleri, 1992: 834-5.
11. Erkut MA, Kuku İ, Kaya E. Kanser kemoterapisi ve böbrek. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2009; 16: 63-8.
12. Patil RR, Guhagarkar SA, Devarajan PV. Engineered Nanocarriers of Doxorubicin: a current update. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 2008; 25: 1-61.
13. Özkocaman V. Ekstramedüller toksisite: değerlendirme, derecelendirme, prognostik faktörler. Türk Hematoloji Derneği - Hematolojide Destek Tedavileri ve İnfeksiyonlar Kursu, http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/HEM_DES_2007_7.pdf 2007 Erişim tarihi: 20.02.2014.
14. Park E, Kim S, Lee M, et al. Protective Effect of N-acetylcysteine and Selenium against Doxorubicin Toxicity in Rats. Journal of Veterinary Science 2003; 4: 129-36.
15. El-Sheikh AA, Morsy MA, Mahmoud MM, et al. Effect of coenzyme-q10 on Doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. Adv Pharmacol Sci 2012; 2012: 981461.
16. Lahoti TS, Patel D, Thekkemadom V, et al. Doxorubicin-induced in vivo nephrotoxicity involves oxidative stress-mediated multiple pro and anti-apoptotic signaling pathways. Curr Neurovasc Res 2012; 9: 282-95.
17. El-Shitany NA, El-Haggag S, El-Desoky K. Silymarin Prevents Adriamycin-Induced Cardiotoxicity and Nephrotoxicity in Rats. Food Chem Toxicol 2008; 46: 2422-8.
18. Narin F, Demir F, Akgün H. Doksorubisin ile oluşturulmuş deneysel kardiyotoksosite ve kardiyotoksosite üzerine L-triptofan etkisi. Erciyes Tıp Dergisi 2005; 27: 7-16.
19. Hirai T, Okumura K, Nishimoto Y, et al. Upregulation of Renal eNOS by High-Sodium Diet Facilitates Hypertension in Doxorubicin-Treated Rats Through Enhanced Oxidative Stress. Toxicology 2006; 225: 81-9.
20. Ayla S, Oktar H, Tanrıverdi G. Doksorubisin nedenli sıçan hepatotoksitesine nikotinamidin koruyucu etkisi. Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi 2009; 10: 229-38.
21. Tulubas F, Gurel A, Oran M, et al. The protective effects of ω-3 fatty acids on doxorubicin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. Toxicol Ind Health 2013. [Epub ahead of print]
22. Kalaiselvi P, Pragasan V, Chinnikrishnan S, et al. Counteracting adriamycin-induced oxidative stress by administration of N-acetyl cysteine and vitamin E. Clin Chem Lab Med 2005; 43: 834-40.
23. Koul A, Shubrant, Gupta P. Phytomodulatory potential of lycopene from Lycopersicon esculentum against doxorubicin induced nephrotoxicity. Indian J Exp Biol 2013; 51: 635-45.
24. Anonymous <http://www.mwt.net/~drbrewer/benfotiamine.htm> 21.05.2010.
25. Loew D. Pharmacokinetics of thiamine derivatives especially of benfotiamine Int J Clin Pharmacol Ther 1996; 34: 47-50.
26. Sanchez-Ramirez GM, Caram-Salas NL, Rocha-Gonzalez HI, et al. Benfotiamine relieves inflammatory and neuropathic pain in rats. Eur J Pharmacol 2006; 530: 48-53.
27. Bakker SJ, Heine RJ, Gans RO. Thiamine may indirectly act as an antioxidant. Diabetologia 1997; 40: 741-2.

28. Beltramo E, Berrone E, Buttiglieri S, et al. Thiamine and benfotiamine prevent increased apoptosis in endothelial cells and pericytes cultured in high glucose. *Diyabetes Metab Res Rev* 2004; 20: 330-6.
29. Chappey O, Dosquet C, Wautier MP, et al. Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 97-108.
30. Way KJ, Katai N, King GL. Protein kinase C and the development of diyabetic vascular complications. *Diyabetic Medicine* 2001; 18: 945-59.
31. Babaei-Jadidi R, Karachalias N, Ahmed N, et al. Prevention of incipient diyabetic nephropathy by high-dose thiamine and benfotiamine. *Diyabetes* 2003; 52: 2110-20.
32. Inoguchi T, Sonta T, Tsubouchi H, et al. Protein kinase C-dependent increase in reactive oxygen species (ROS) production in vascular tissues of diyabetes: role of vascular NAD(P)H oxidase. *J Am Soc Nephrol* 2003 14: 227-32.
33. Harisa G, Benfotiamine enhances antioxidant defenses and protects against cisplatin- induced DNA damage in nephrotoxic rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2013; 27: 398-405.
34. Karachalias N1, Babaei-Jadidi R, Rabbani N, et al. Increased protein damage in renal glomeruli, retina, nerve, plasma and urine and its prevention by thiamine and benfotiamine therapy in a rat model of diyabetes. *Diyabetologia* 2010; 53: 1506.